

## 皮膚機能の電気化学的評価と制御に関する研究

著者	阿部 結奈
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第19218号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00130486">http://hdl.handle.net/10097/00130486</a>

氏名	あべ ゆい な 阿部 結 奈
研究科, 専攻の名称	東北大学大学院工学研究科 (博士課程) ファインメカニクス専攻
学 位 論 文 題 目	皮膚機能の電気化学的評価と制御に関する研究
論 文 審 査 委 員	主査 東北大学教授 西澤 松彦 東北大学教授 小野 崇人 東北大学教授 田中 真美 東北大学准教授 梶 弘和

## 論文内容要約

皮膚は生体をくまなく包み, 体内の諸器官を外界から隔離する物理的な保護膜として働く. さらに, 温度や光などさまざまな刺激を感知し, これに応じて生理機能を調節することで体内の恒常性を維持する, 高機能かつインテリジェントな生命維持器官でもある. 皮膚はまた電気化学的な側面をもち, 皮膚疾患や肌荒れ, 老化などに内部のイオン動態が関連していることや, 電気刺激によって創傷治癒が促進される, 触覚を再現できる, といったことが研究されてきている. 神経や筋肉といった組織がイオンのシグナルを受けて動く電気化学的システムであることは古くから知られているが, 皮膚もまた電気化学的システムを備えた組織である可能性が示唆される. 本研究では, 皮膚に対して電気化学的なアプローチを適用し, 皮膚の中に存在すると推測される電気化学的なシステムの解明やその応用に寄与することを目標とした.

ここで, 皮膚は多層構造からなり, 最も外側には表皮組織が存在する. 表皮は主にケラチノサイトとよばれる細胞が積層した構造をとり, 表面に角層とよばれる  $0.01\text{ mm}$  厚の層を作り出す. 角層は角化したケラチノサイトと脂質を煉瓦とモルタルのように積み上げた強固な保護膜であり, 内部器官から水分が失われることや, 外的な異物の侵入などを防いでいる (バリア機能). バリア機能がなければ生体は生命活動を維持できず, 機能不全は皮膚の異常や疾患につながる. 表皮は角層の材料を絶え間なく供給して常に新しく健全な状態を保ち, バリア機能不全が生じれば修復する働きをもつ. さらに近年の研究により, ケラチノサイトが刺激の検知や伝達にも関与する可能性が明らかになってきている.

表皮内部には表皮電位とよばれる数  $\text{mV}$ ~数十  $\text{mV}$  の電位差が発生しており, ケラチノサイトのイオン輸送の働きによって生じるものと考えられている. 表皮電位の値は皮膚の創傷やバリア不全に伴って変化することが知られており, 表皮機能の指標となることや, 皮膚の中の電気化学的なプロセスの解明に寄与することが期待できる. しかし, 表皮電位は皮膚の厚み方向に沿って生じるため, 電位測定のためには表皮表面のみならず表皮内部にも電極を接続しなければならず, 侵襲性を避けられないことが研究進展の大きな課題となっている.

そこで本研究ではまず, 従来の問題を解決する低侵襲測定システムを開発した. 医療用の無痛微小針 (直径  $0.18\text{ mm}$ ) に, 体液に近い組成の電解液 (リングル液) を保持したアガロースゲルを充填して塩橋とし, これを表皮内部に差し込んでイオンの導通をとるものである. なお, 塩橋を用いる測定系には, 電位差を測定するための可逆電極を測定対象から分離することで, 生体組織内の化学種による電気化学反応などの外乱を避けて測定を行うことができるという利点がある. 針塩橋内の電解液を介した導通を素早く形成させるため, オゾンプラズマ処理により針の表面を親水化し, また皮膚深部に存在する皮下脂肪の干渉を防ぐため, 針にシリコーンゴム製のスペーサーを取り付けて刺入深さを約  $1\text{ mm}$  に制限した. この加工により, 針塩橋による測定電位はサンプルへの刺入後ただちに安定するようになった. まずブタ皮膚サンプルで表皮電位測定を試み, 従来の侵襲的な測定法と同様の表皮電位の測定に成功するとともに, 針の刺入が表皮電位に及ぼす影響が無視できるほど小さいことも確認できた. 生体ヘアレスマウスでも測定実験を行ったが, このとき角層に対してアセトンによる脱脂や粘着テー

ブによる剥離の処理を施すことで実験的にバリア機能を破壊し、これに伴って電位が減少する様子を観察することに成功した。さらに、表皮電位測定システムをプローブのような小型の樹脂製ハウジングにまとめたデバイス（表皮電位測定プローブ）を作製した。コンパクトなデバイスは簡便に取り扱うことができ、塩橋などの支持や交換も容易であることから安定かつ衛生的な測定が可能であった。さらに、ピンポイントで電位差測定を行うため、他組織由来のノイズを避けつつ局所的なバリア破壊の検出を実現することができた。測定プローブを用いてヒトの実験参加者の表皮電位を測定し、粘着テープによる剥離で段階的にバリア機能を低下させることで、既報にあるバリア機能と電位との相関関係をも確認することに成功した。表皮電位は従来のバリア指標である経皮水分蒸散量（皮膚からの水分蒸散量）より測定環境の温度・湿度に影響を受けにくく、新たなオンデマンド評価法となる可能性がある。

続いて、表皮電位を用いた皮膚の外部刺激応答の電気化学的評価を試みた。本研究では皮膚に加わる外部刺激の代表として機械的刺激を取り上げた。機械的刺激は皮膚の胼胝や癬痕（盛り上がった傷痕）形成など、皮膚障害や疾患への関連が知られる。まず、表皮細胞レベルでの応答を分析するため、高強度培養表皮モデルを開発した。生体皮膚と近い環境を再現するため、細胞培養の基板には表皮の足場組織に似た高強度のハイドロゲルとして Double Network (DN) ゲルを用いた。2-アクリルアミド・2-メチルプロパンスルホン酸ナトリウム (NaAMPS) と N, N-ジメチルアクリルアミド (DMAAm) のネットワークが相互に絡み合った構造をもつ DN ゲル表面に、細胞接着性分子としてさらに NaAMPS を重合する独自技術を確立し、ゲル本来の伸縮性と栄養透過性を生かした新たな培養基板を作製することに成功した。ゲルは生体皮膚同様に伸展することができ（200 %以上）培養した表皮モデルは生体皮膚同様の機械的伸展（50 %以上）に耐え、刺激に応じて細胞内カルシウムイオンの濃度に変化し、その波が周囲に伝播していく様子を観察することにも成功した。そこで、さらに組織レベルでの刺激応答を分析するため、ブタ皮膚サンプルについて表皮電位測定を行った。繰返し伸展を行うと、電位は伸展中のみ一時的に減少し、除荷すると元の値に戻ることが観察された。また、その減少幅は伸展ひずみが大きいほど大きかった。表皮電位測定プローブを用いたピンポイント測定により、電位変化が主に表皮内で発生していたことも確かめられた。これは機械的刺激に対する皮膚の電気化学的応答の最初の報告であり、創傷治癒などのプロセスへの関与が推測される。本実験を通じ、表皮電位を指標として用いた皮膚機能の評価可能性を示すことができた。

さらに、表皮電位を用いた皮膚機能の治療法の評価を試みた。本研究では、現在研究段階にあるバリアの光治療を取り上げた。先行研究では、赤色光刺激が皮膚バリアの回復を促進すると報告され、表皮内に光受容体が存在する可能性や、生体の代謝に関与する分子が光により活性化された結果である可能性が示唆されている。本実験では LED 光源に光ファイバーのライトガイドを取り付け、皮膚上の一点に絞り込んで刺激を行った。表皮電位測定の結果、アセトンで脱脂したブタ皮膚サンプルに赤色光を照射すると表皮電位の回復が促進されることが明らかになった。青色光、紫色光では回復促進効果がみられず、これも先行研究の報告と一致する結果となった。さらに、表皮電位のピンポイント測定を利用して、先行研究では未検討であった光刺激条件間での比較を行った。刺激の強度については、放射照度の小さい光を長時間照射する場合より、短時間でも放射照度の大きい光を照射する場合に表皮電位が大きく回復したことから、刺激の総エネルギー量よりも回復活性化の閾値を超える照度の刺激が重要であることが推測された。治療効果の空間的な広がりについては、光を照射した点から約 20 mm 離れた点まで回復促進効果が観察された。また、表皮電位測定プローブに光照射機能を統合し、断続的な光刺激中の電位変化をリアルタイムで測定したところ、最初の光照射を開始すると同時に電位の回復が加速することや、光照射を一旦停止しても回復傾向が続くことが観察できた。こうした時空間的評価により、必要最小限の刺激と消費エネルギーによって効率よく治療効果を得るためのパラメーターや光源装置のデザインなどの決定に寄与する知見を得ることができた。表皮電位による電気化学的評価は、将来の光治療デバイス開発に役立つツ-

ルとなることが期待できる。

上述の結果から、表皮内に発生する電圧（表皮電位）を測定することで皮膚の機能を知ることができると考えられる。これとは逆に、外部から電圧を印加することによって皮膚機能に働きかけることができるという発想も生まれる。先行研究として、外部から負の電圧をかけることで皮膚バリアの回復が促進されるという電気治療法が報告されている。先行研究では電極を2つ皮膚表面に並べて配置し、負電位側での回復促進、正電位側での阻害効果を報告している。本研究では先行研究の電圧印加系を改良し、表皮電位測定系と同様に皮膚表面と内部に電極を配置することで、正電位側の電極が皮膚表面に及ぼす阻害効果を避けた。ブタ皮膚サンプルの角層をアセトンで脱脂し、電圧印加部の表皮電位を測定すると、負電位の刺激によって表皮電位の回復も促進されることが明らかになり、その効果は印加電圧が大きいほど大きいこともわかった。さらに、表皮電位測定プローブに電圧印加デバイスを統合して、断続的に電圧を印加しながらリアルタイムでの電位差測定を行い、刺激中の電位変化を観察することに成功した。こうした評価実験は電圧印加の条件検討や、バリア回復促進メカニズムの解明に寄与する重要なものであり、表皮電位は皮膚機能の電気化学的な制御について研究する際の有用な手掛かりとなることが期待できる。

以上のように、本研究では皮膚機能を電気化学的に評価・制御するため、表皮電位を低侵襲かつ安定に測定する新たなシステムを開発した。これを用いて、皮膚の刺激応答、治療法について評価することに成功し、さらに皮膚機能の制御を達成した。表皮電位研究における長年の課題に解決策を提案し、皮膚の電気化学的な側面の解明に寄与しうる成果であり、将来的には医療・美容応用に資することが期待できる。